Aus dem Landestierseuchenamt Rostock
Direktor: Professor Dr. Dr. Poppe

Vergleichende Untersuchungen über Färbe- und Einengungsverfahren zum mikroskopischen Nachweis von Tuberkelbazillen

Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde einer Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt von

Werner Bangel
aus Brake i. W.

Carl Hinstorffs Hofbuchdruckerei / Rostock
1935

Referent: Prof. Dr. Dr. P o p p e.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Unter den für die Diagnose der Tuberkulose in Frage kommenden Methoden ist der einwandfreie Bazillennachweis das sicherste Hilfsmittel. Es ist daher erklärlich, daß im Laufe der Zeit eine große Zahl von Methoden zum Nachweis der Tuberkelbazillen angegeben worden ist.

Das gefärbte Ausstrichpräparat ist das einfachste Verfahren, das sich unter den bestehenden Voraussetzungen als zuverlässig bewährt hat. Zur Färbung werden zahlreiche Methoden angewandt. Die Mehrzahl der heute gebräuchlichen beruht auf der Säurefestigkeit des Tuberkelbazillus, die darauf basiert, daß die sog. säurefesten Bakterien eine fett- oder wachsartige Hülle besitzen, die imstande ist, sich mit bestimmten Farbstoffen zu färben und diese bei nachfolgender Entfärbung mit Säuren festzuhalten.

Sicherlich hat die Ziehl-Neelsen'sche Färbung wegen ihrer großen Einfachheit heute noch weitaus die meisten Anhänger, umsomehr als die dazu notwendigen Farben und Flüssigkeiten billig sind. Dieses Verfahren ist daher die Methode, die allgemein Eingang gefunden hat. Verschiedene Autoren haben jedoch nachgewiesen, daß die Färbung nach Ziehl-Neelsen für eine sichere Sputumanalyse nicht immer ausreicht und von anderen Färbeverfahren in mancher Hinsicht übertroffen wird. Bereits im Jahre 1902 hat Wolff festgestellt, daß in einem Falle von Tuberkulose nach Ziehl keine Bazillen, dagegen nach dem Ehrlich'schen Verfahren solche nachzuweisen waren. Von verschiedenen Seiten (C. Spengler 1907, Much, Kronberger, Betegh u. a.) sind Stimmen laut geworden, daß die Ziehlmethode nicht immer den zu stellenden Anforderungen genügt. Namentlich die sog. Strukturmethoden, vor allem die Pikrinmethode, haben dargetan, daß die „Splitter", „Körner" (C. Spengler), „Granula" (Much) mit der Ziehlmethode nicht oder nur ungenügend zur Darstellung kommen. In neuerer Zeit sind dann weitere Färbe-

methoden empfohlen worden, die sich von der Ziehl'schen Methode dadurch unterscheiden, daß ein anderes Entfärbungsmittel (von Konrich, Schulte-Tigges, Nagel u. a.) oder eine andere Gegenfärbung oder überhaupt keine Gegenfärbung (von Marx, Kronberger, Kayser, Bender, Ulrichs u. a.) verwendet werden.

Vergleichende Untersuchungen über die Bewertung des Ziehl-Neelsen'schen Verfahrens haben zu folgenden Ergebnissen geführt. Spreitzer hatte bei Untersuchung von 100 nach anderen Methoden positiven Proben 6, die zunächst nach der Ziehl-Neelsen'schen Methode nicht als positiv erkannt worden waren; erst bei der 2. Untersuchung mittels dieser Methode gelang der Nachweis vereinzelter Tuberkelbazillen. „Auch war durchweg die Anzahl der in einem Gesichtsfeld gefundenen Tuberkelbazillen nach den neueren Färbemethoden viel größer. Das zahlenmäßige Ergebnis war, daß, während bei 50 Sputen nach Ziehl-Neelsen durchschnittlich nur 5,76 Tuberkelbazillen im Gesichtsfeld zu sehen waren, es nach Schaedel 12,56, nach Jötten-Haarmann 13,04, nach Marx 14,5 und nach Konrich sogar 14,94 waren." Nach den Untersuchungen von Spreitzer brachte die Methode nach Konrich die besten Ergebnisse, da sie am meisten Tuberkelbazillen im Gesichtsfeld erkennen ließ. Spreitzer beurteilt daher das Konrich'sche Färbeverfahren als sicher und billig, da es keinen Alkohol, sondern nur Natriumsulfit benötigte, wenn es auch den Nachteil hat, daß es für Rot-grün-Farbenblinde nicht in Betracht kommt.

Herman hatte mit der von ihm angegebenen Methode noch positive Ergebnisse gehabt, wo andere Methoden versagten. Auch Adam hatte im allgemeinen mit der Herman'schen Färbung bessere Resultate zu verzeichnen, weshalb er sie als Ersatz empfohlen und dabei festgestellt hat, daß nach fast ¾ Jahren die Färbung der Tuberkelbazillen noch erhalten war, während die nach Ziehl-Neelsen gefärbten Bazillen bereits weniger deutlich hervortraten. Nach Dordt gibt die Herman'sche Methode in 17 Proz. der Fälle mehr positive Resultate. Berka stellte mit der Herman'schen Methode durchschnittlich 15 mal mehr Tuberkelbazillen fest als mit der Ziehl'schen und erwähnt dabei, daß mehrere Bazillen sichtbar wurden, wenn nach Ziehl gefärbte

Präparate nach Herman nachgefärbt wurden. Kayser hatte in 300 Sputen, in denen nach Ziehl keine Tuberkelbazillen gefunden wurden, in 8 Proz. der Präparate, die nach Herman gefärbt wurden, noch Bazillen nachgewiesen.

Jötten und Haarmann untersuchten 108 Sputumproben gleichzeitig nach Ziehl-Neelsen (44 positive), Kronberger und Weiß (je 47 positive), Spenglers Originalmethode (48 positive). An Stelle der umständlicheren Spenglermethode färbten sie nach eigenem Verfahren weitere 170 Sputumproben mit dem Ergebnis, daß nach Ziehl-Neelsen in 59, mit der Original-Spenglermethode in 61, mit der Jötten'schen Modifikation in 62 Fällen Tuberkelbazillen ermittelt wurden.

Außer von der Färbemethode ist der Nachweis der Tuberkelbazillen auch abhängig von der Art des Ausstrichverfahrens. Namentlich beim menschlichen Sputum ist durch die starke Schleimbeimengung die Auffindung tuberkelbazillenhaltiger Gewebsteilchen erschwert. Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, durch entsprechende Behandlung diese Schwierigkeiten zu beheben. Diese Verfahren bestehen teils in der Anwendung schleimlösender Mittel oder besonderen Einengungsverfahren.

Die Entwicklung der Einengungsfrage hat ergeben, daß sowohl die älteren Methoden von Biedert, Mühlhäuser, Czaplewski, ebenso das Perhydrolverfahren von Sachs-Mücke und Sorgo und das Ligroinverfahren von Lange und Nitsche in seiner ursprünglichen Form verdrängt oder zum mindesten beeinflußt worden sind durch die von Uhlenhuth angegebene Einengung mittels Antiformins.

Die erste Voraussetzung für den Erfolg einer Einengung ist die dünnflüssige Beschaffenheit der Sputumlösung. Diese Auflösung ist daher bei Sputumproben von zäher Konsistenz nach den Untersuchungen von Hundeshagen weder zu erreichen durch die von Ditthorn und Schultz vorgeschlagene Behandlung mit Kalilauge, noch durch die Anwendung von Ammoniak, die Brauer vorgeschlagen hat. Engelsmann hat bei Nachprüfung des Verfahrens nach Ditthorn und Schultz die Verwendung der Kalilauge verworfen und an deren Stelle Antiformin empfohlen. Lange und Nitsche hatten ursprünglich ebenfalls Kalilauge zur Homogenisierung gewählt, diese aber später durch

Antiformin ersetzt, nachdem durch Schulte auf die unvollständige Homogenisierung durch Kalilauge hingewiesen worden war. Ebensowenig lassen sich durch Zentrifugieren bei solch mangelhafter Homogenisierung die Bazillen restlos ausschleudern.

Das Uhlenhuth'sche Verfahren wurde von Schulte, Thilenius, K. Meyer, Muttray, Reicher, Hobbel, Roepke, v. Scheven, Polugorodnik, Bornand, Hüne, Lagrèze u. a: nachgeprüft und seine Brauchbarkeit in vollem Umfange bestätigt. Aus diesen Untersuchungen hat sich ergeben, daß nach dem gewöhnlichen Ausstrichverfahren als negativ befundene Sputumproben nach Anreicherung mit Antiformin noch positiv waren in 14 Proz. (Muttray), 27,7 Proz. (Thilenius), 34 Proz. (Hüne), 34,23 Proz. (Langrèze), 35 Proz. (Bornand) oder eine Steigerung der positiven Befunde von 46,1 Proz. auf 73,6 Proz. (v. Scheven) aufwiesen. Im Gegensatz dazu stehen die Angaben von Ditthorn und Schultz, Engelsmann und K. Brauer. Ditthorn und Schultz fanden in etwa 17 Proz. der untersuchten Sputen nach der Antiformineinengung weniger Bazillen als im unmittelbaren Ausstrich und in ebenfalls etwa 17 Proz. bei beiden Verfahren die gleiche Anzahl. Engelsmann hat von positiven Sputumproben in 13 Proz. ein negatives Ergebnis bei Anwendung der Antiformineinengung erhalten und weist darauf hin, daß die Bazillen in diesen Fällen nicht etwa sehr spärlich, sondern in 40 Proz., in einer anderen Versuchsreihe sogar in 50 Proz. der gewöhnlichen Ausstriche „mäßig reichlich bis zahlreich" vorhanden waren. Ferner hat Engelsmann hervorgehoben, daß in einer Versuchsreihe von positiven Sputen im gewöhnlichen Ausstrichpräparat viele (13 Proz. der Proben), nach der Einengung wenige Bazillen (24,4 Proz.), gleich viele Bazillen im gewöhnlichen Ausstrichpräparat und nach Einengung in 62 Proz. der Proben gefunden wurden, in einer anderen Versuchsreihe in 46,6 Proz. der Proben und daß nur in der Minderzahl der untersuchten Proben die Einengung mehr Bazillen ergab als das gewöhnliche Ausstrichpräparat. Auch K. Brauer hatte unter seinen positiven Sputumproben 10,76 Proz., die nach dem Antiforminverfahren keine Bazillen ergaben.

In vorstehenden Ausführungen ist versucht worden, einen Überblick über die wichtigsten Verfahren zum mikroskopischen

Nachweis der Tuberkelbazillen zu geben. Im Schrifttum finden sich weitere Verfahren, die nicht besprochen worden sind. Unter Berücksichtigung der angeführten und der sonst im Schrifttum niedergelegten Befunde ergibt sich folgendes Bild:

1. die Färbung der Präparate nach der Ziehl-Neelsen'schen Methode führt nicht immer zum Ziel; es herrscht daher Übereinstimmung, daß zur Ergänzung der Ziehlmethode andere Verfahren herangezogen werden müssen;

2. beim gewöhnlichen Ausstrichpräparat mit negativem Bazillenbefunde wird im allgemeinen zur Sicherung der Diagnose die Homogenisierung des Sputums mit nachfolgender Einengung gefordert.

Es wurde mir daher von Herrn Prof. Dr. Dr. Poppe die Aufgabe gestellt:

1. den Wert verschiedener Färbeverfahren zum Nachweis von Tuberkelbazillen im Vergleich zur Ziehl-Neelsen'schen Methode zu prüfen, und

2. ein besonderes Einengungsverfahren auf seine Brauchbarkeit zu untersuchen.

Eigene Untersuchungen.

Der mikroskopische Nachweis der Tuberkelbazillen erfolgt in der Regel auf folgende Weise:

1. in gefärbten Ausstrichpräparaten ohne weitere Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials,
2. nach besonderer Vorbehandlung
   a) durch Anreicherungsverfahren,
   b) durch Einengungsverfahren, wodurch eine Konzentration der verstreut liegenden Bazillen erreicht werden soll.

Die Untersuchung der dieser Arbeit zugrunde gelegten 100 Sputumproben erfolgte zunächst im üblichen Ausstrichverfahren unter Anwendung von drei Färbeverfahren, die mit dem Ergebnis der Ziehl-Neelsen'schen Färbung verglichen wurden. Die Sputumproben stammen von tuberkulösen Menschen aus der Medizinischen Universitätsklinik. Um gute Vergleichswerte zu erhalten, wurde das Untersuchungsmaterial möglichst gleichmäßig auf die zu färbenden Präparate verteilt. Ferner wurden nur Sputen mit wenig Tuberkelbazillen herangezogen, einerseits um den Wert der verschiedenen Färbeverfahren besser beurteilen zu können, andererseits, weil bei viel Tuberkelbazillen enthaltenden Material sich nur feststellen läßt, ob durch die Färbung viel oder wenig Tuberkelbazillen sichtbar gemacht werden. Als Vergleichsmaßstab für die Auszählung der Tuberkelbazillen in jedem Präparat wurden 40 Gesichtsfelder durchgemustert.

Färbeverfahren:

I. Färbemethode nach Ziehl-Neelsen
   A. Originalmethode
   B. Abänderung der Entfärbung

1. Abänderung der Säureentfärbung
2. Einzeitige Entfärbung
3. Färbemethode nach Konrich

C. Abänderung der Nachfärbung

II. Färbemethode nach Herman

III. Färbemethode nach Jötten-Haarmann

Das Ziehl-Neelsen'sche Verfahren wurde besonders auf seine Verwendbarkeit geprüft, weil dieses seiner Einfachheit wegen die am meisten angewandte Methode ist.

I. Färbemethode nach Ziehl-Neelsen.

A. Originalmethode.

1. Die durch Hitze fixierten Präparate werden mit Karbolfuchsin (Ziehl'sche Lösung: filtrierte Mischung von 10 ccm gesättigter alkoholischer Lösung von Fuchsin [Diamantfuchsin I] und 100 ccm 5 %iger Karbollösung) unter wiederholtem Erwärmen 2—3 Minuten gefärbt.
2. Entfärben in 25 %iger Schwefelsäure 2—5 Sekunden.
3. Auswaschen in 60—70 %igem Alkohol, bis keine Farbe mehr abgegeben wird, bzw. bis die Präparate farblos erscheinen.
4. Nachfärben mit wässeriger Methylenblaulösung ½ Minute (zu starkes Nachfärben ist zu vermeiden, Tuberkelbazillen nehmen dann violette Färbung an und verlieren ihren scharfen Kontrast).
5. Wasserspülung.

Die Tuberkelbazillen zeigen nach der Ziehl-Neelsen'schen Färbung ein typisches Aussehen. Die manchmal etwas gekrümmt erscheinenden Stäbchen sind gewöhnlich homogen gefärbt. Bei älterem Sputum enthalten die Stäbchen meist 2—3 Körnchen, die unregelmäßig zu Häufchen liegen. Im allgemeinen ist das mikroskopische Bild gut übersichtlich, denn die intensiv rot gefärbten Tuberkelbazillen heben sich bei der Nachfärbung mit Methylenblau von den blau gefärbten Zellen gut ab. Abgesehen von der Much'schen Granulafärbung, die unter den eigentlichen Tuberkelbazillenfärbemethoden eine Sonderstellung einnimmt, zeigt die Ziehl-Neelsen'sche Färbung nicht immer vollständig befriedigende

Ergebnisse, denn die nach dieser Methode darstellbaren Tuberkelbazillen entsprechen nicht der tatsächlich vorhandenen Zahl (Boit, Jötten und Haarmann, Porges, Leichtweiß, Ingwersen, Kronberger, Hetzel u. a.). Diese Feststellung wurde durch die vorliegenden Untersuchungen, die sich auf den Typus humanus erstreckten, bestätigt. Bessere Ergebnisse wurden durch folgende Abänderung der Originalmethode erzielt:

Nichtaufkochen der Farblösung, weil beim Kochen sich Niederschläge bilden;

Entfärbung in 10 %iger Schwefelsäure durch ein- bis zweimaliges Schwenken.

B. Abänderung der Entfärbung.

1. Abänderung der Säureentfärbung.

Bei Anwendung der Ziehl'schen Methode ist es möglich, die Zahl der gefärbten Bazillen zu ändern, je nachdem die Entfärbung in Säure und Alkohol schneller oder langsamer vorgenommen wird. Nach längerer Säureeinwirkung entfärbten sich viele Tuberkelbazillen, während eine größere Zahl gefunden wurde, wenn nur kurze Zeit entfärbt wurde. Diese Verhältnisse ließen sich am gleichen Präparat gut zur Darstellung bringen, wenn das gleiche Präparat zunächst in der üblichen Weise gefärbt und besichtigt, dann nach Entfernung des Zedernöls nochmals gefärbt und nun kürzere Zeit in Säure und Alkohol entfärbt wurde. Bei Sputumpräparaten war dieses Verfahren ohne Schwierigkeit durchzuführen. Die Zählung ergab, daß bei der zweiten Färbung mehr oder weniger Bazillen vorhanden sind, je nach der Entfärbungsdauer bei der zweiten Färbung.

Von Ziehl-Neelsen ist für die getrennte Entfärbung in Säure und Alkohol Schwefelsäure empfohlen worden, andere Untersucher (Berka, Brieger, Ehrlich) bevorzugen Salpetersäure. Berka hat beobachtet, daß bei der Ziehlfärbung größere Bazillenmengen dargestellt werden können, wenn statt der 25 %igen Schwefelsäure die schwächere 10 %ige Salpetersäure benutzt wurde. Die vorliegenden Untersuchungen ergeben eine Bestätigung dieser Feststellung insofern, als bei der Anwendung von

5 %iger Salpetersäure mehr Tuberkelbazillen darzustellen waren als mit der 10 %igen, während mit der 10 %igen Schwefelsäure mehr Bazillen sichtbar zu machen waren als mit der 5 %igen Salpetersäure. Die Beurteilung von Tuberkelbazillenpräparaten, die der verschiedenen Säurebehandlung unterworfen wurden, sprach somit zu Gunsten der 10 %igen Schwefelsäure, der für die Untersuchung auf Tuberkelbazillen vom Menschen der Vorzug zu geben ist.

2. Einzeitige Säurealkoholentfärbung.

Die einzeitige Säure-Alkoholentfärbung ist verschiedentlich empfohlen worden (Salpetersäure-Alkohol nach Rindfleisch, Salzsäure-Alkohol nach Günther und Orth). Orth hat den salzsauren Alkohol als Entfärbungsmittel vorgezogen, der besser wirken und die Präparate weniger angreifen, dabei die Farbe der Bazillen selbst bei etwas länger dauernder Einwirkung nicht zerstören soll. Die vorliegenden Untersuchungen haben ergeben, daß die einzeitige Entfärbung der zweizeitigen Säure-Alkoholentfärbung nicht gleichwertig ist, denn die Zahl der Bazillen war bei letzterem Verfahren erheblich größer.

3. Färbemethode nach Konrich.

1. Färben mit heißem Karbolfuchsin ½—2 Minuten ohne Aufkochen (Erhitzen bis zum beginnenden Bläschenspringen).
2. Kräftige Wasserspülung.
3. Entfärben in 10 %iger wässeriger Natriumsulfitlösung bis zur völligen Entfärbung.
4. Wasserspülung.
5. Nachfärben mit Malachitgrün ¼—½ Minute (50,0 gesättigte wässerige Malachitgrünlösung + 100,0 Wasser).

Die zur Differenzierung benutzten Lösungen haben kaum eine Abänderung erfahren; es besteht jedoch die Möglichkeit einer zu starken Entfärbung durch zu hohe Konzentration oder zu lange Einwirkung von schwächeren Lösungen. Konrich sucht diese Möglichkeit zu vermeiden durch Differenzierung in 10 %iger Natriumsulfitlösung.

Die Entfärbung mit Na-Sulfit ist, wie v. Bergen sich ausdrückt, „weniger brutal", als die mit Säurealkohol, was schon

daraus hervorgehen soll, daß selbst nach 3—4 tägiger Behandlung Tuberkelbazillen nicht zu entfärben waren. Es muß jedoch auch an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß ein so günstiges Ergebnis nur bei Verwendung eines wirklich guten Na-sulfit-Präparates und frisch bereiteter Lösungen erzielt wird; nach dem Vorschlage von Laubenheim soll Natrium sulfurosum siccum, das doppelt soviel wirksame Substanz enthält wie das kristallisierte Sulfit, verwendet werden. Vorzüge des Konrich'schen Verfahrens sind die Einfachheit der Anwendung, die Aussicht auf gute Präparate sowie die Gewähr, daß ein Entfärben der Tuberkelbazillen bei dem Sulfitverfahren nicht möglich ist (Konrich, v. Bergen u. a.).

Die von Konrich empfohlene Sulfitfärbung ist deshalb als ein Fortschritt in der Tuberkelbazillenfärbung anzusehen, deren günstige Ergebnisse von Spreitzer, Bender, Bernblum und Konrich bestätigt wurden; Zimmermann, Papacostas und Lacoste, Gaté und Isobalinski-Gitowitsch glauben dagegen, daß der Sulfitentfärbung ein Vorteil nicht zukommt. Von Nachteil ist, daß das Natriumsulfit in der Lösung durch Aufnahme von Sauerstoff aus der Luft in einigen Tagen in Sulfat übergeht und damit an reduzierender Kraft verliert. Deshalb ist es notwendig, frisch hergestellte Lösungen zu verwenden.

Die mit der Konrich'schen Methode erhaltenen Ergebnisse waren recht gut und entsprachen den mit der 10 %igen Schwefelsäureentfärbung erzielten.

C. Abänderung der Nachfärbung.

Die Nachfärbung mit Malachitgrün an Stelle von Methylenblau begründet Konrich wie folgt: „Dies geschieht aus 2 Gründen, einmal weil unser Auge den Farbengegensatz rot-grün am besten und leichtesten sieht und zweitens, weil das Malachitgrün zur Darstellung von Bakterien vermöge seiner geringen Färbekraft weniger geeignet und deswegen bisher auch nicht verwendet worden ist; denn es färbt durchgehends zu schwach. Das ist aber in Auswurfspräparaten gerade nützlich, weil außer den dunkelgefärbten, ganz scharf umgrenzten Tuberkelbazillen alles andere,

auch die übrigen Bakterien, nur leicht, gewissermaßen verwaschen grün gefärbt sein sollen".

Bei Durchsicht von über 200 Präparaten ließen sich die Vorzüge der Malachitgrün-Nachfärbung voll bestätigen. Das untersuchende Auge empfindet es als Erholung, wenn es aus dem Kontrast rot-blau in das rot-grüne mikroskopische Bild schaut. Der Farbengegensatz rot-grün strengt das Auge selbst bei künstlicher Beleuchtung fast nicht an. Dieser Vorteil ist sehr hoch zu bewerten, z. B. bei Untersuchung von Präparaten mit vereinzelten Bazillen, die nicht gleich in den ersten Gesichtsfeldern gefunden werden, tritt bei dem Kontrast rot-blau eine schnellere Ermüdung des Auges auf Kosten des genauen Ergebnisses der Untersuchung ein. Malachitgrün-Präparate erleichtern dagegen durch den doppelten Gegensatz (Tuberkelbazillen rot, alles übrige grün; Tuberkelbazillen scharf umgrenzt, alles übrige verwaschen) die Durchmusterung und das Herausfinden auch vereinzelter Bazillen ganz wesentlich.

Bei der Ziehl-Neelsen'schen Methode mit Entfärbung in 10 %iger Schwefelsäure ließ sich ebenfalls durch Nachfärbung mit Malachitgrün eine erhebliche Steigerung der Leistungsfähigkeit erzielen.

II. Färbemethode nach Herman.

Von den Methoden mit veränderter Intensivfärbung verdient die von Herman angegebene besondere Beachtung.

1. Nach Fixierung färben mit 6—8 Tropfen einer Ammoniumkarbonat-Kristallviolettlösung über der Flamme bis Dämpfe aufsteigen und stehen lassen 1 Minute (3 Teile einer 1 %igen Ammoniumkarbonatlösung in destilliertem Wasser und 1 Teil einer 3 %igen Kristallviolettlösung in 95 %igem Alkohol).
2. Entfärben in 10 %iger Salpetersäure mehrere Sekunden, sodann in 95 %igem Alkohol (mehrere Male), bis die Präparate blaßblaue Farbe zeigen.
3. Auswaschen in Wasser (2—3 Minuten), bis der Farbenton wiederkehrt.
4. Nachfärben in wässeriger Eosinlösung (0,3- bis 1 %ig).

Eine Nachfärbung empfiehlt Herman nicht, da nach seiner Meinung die veilchenblau gefärbten Tuberkelbazillen auf blaßblauem Grunde sehr gut erkennbar sind. Die Tuberkelbazillen sind jedoch nicht immer leicht zu finden, da sie durch die Einwirkung der Salpetersäure und des Alkohols etwas Farbe abgeben und blaß gefärbt erscheinen. Eine Nachfärbung wurde deshalb vorgeschlagen; Caan und Mayer empfehlen eine Lösung von Alkoholkarmin, die aber nach Böhm wegen der sehr starken Färbefähigkeit des Karmins nicht besonders günstig ist; Berka empfiehlt Nachfärbung mit Bismarckbraun, von der Böhm sagt „daß sie auch keinen schönen Kontrast zwischen dem braungelben Grunde und den veilchenblauen Tuberkelbazillen gibt, obzwar diese Nachfärbung sich dennoch besser bewährte als die von Caan und Mayer."

Im Rahmen vorliegender Untersuchungen wurde Eosin mit sehr gutem Erfolg angewandt und eine dünne, wässerige Lösung (0,3- bis 1 %ig) benutzt, womit die vorgefärbten Präparate abgespült wurden. Hierbei wurde ein sehr scharfer Kontrast erzielt und damit die Erkennung der Tuberkelbazillen sehr erleichtert. Eine konzentriertere Eosinlösung war nicht geeignet, da in den auf diese Weise gefärbten Präparaten die Tuberkelbazillen nicht rein veilchenblau waren, sondern durch die Einwirkung des Eosins eine rötliche Farbe angenommen hatten. In den Präparaten ohne Eosin-Nachfärbung waren die Tuberkelbazillen in geringerer Menge sichtbar als in den Präparaten mit Nachfärbung. Am häufigsten wurden längere und dickere Formen gefunden, die denen vom Typus bovinus ähnlich waren; Körnchen waren in den Bazillen meistens sichtbar.

Nach den Angaben vieler Autoren (Naegeli, Akerblom und Vernier, Adam, Caan, Berka, Kayser, Kongsted, Frei, Krumweide und Blackburn u. a.) soll die Herman'sche Methode nicht selten positiv sein, wenn die Ziehl-Neelsen'sche negativ ausfällt. Nach Kongsted ist die uneingeschränkte Anwendung nicht zu empfehlen, weil es in einzelnen Fällen vorkommen soll, daß Kokken sich nicht völlig entfärben, die zur Verwechslung mit Tuberkelbazillensplittern führen und die Diagnosestellung gefährden können. Kongsted hat auch den wohl berechtigten Einwand erhoben, „daß nicht alle Bazillen, die

sich nach der Herman'schen Methode färben lassen, tatsächlich Tuberkelbazillen sind."

Was die Zahl der gefundenen Bazillen anbelangt, so fanden sich keine so großen Unterschiede zwischen der Ziehl-Neelsen (in der Abänderung mit 10 %iger Schwefelsäure und Malachitgrün) und der Herman'schen Färbemethode als zwischen der Ziehl-Neelsen und der Konrich'schen. Berka hat mit der Herman'schen durchschnittlich 15mal mehr Tuberkelbazillen zur Darstellung gebracht als mit der Ziehl'schen. Auch erwähnt Berka, daß in den nach Ziehl gefärbten Präparaten mit der Herman'schen Methode mehr Bazillen sichtbar wurden.

Die vorliegenden Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis. Mit der Herman'schen Färbemethode mit Nachfärbung wurden gute Präparate erzielt, jedoch nicht mehr gefärbte Tuberkelbazillen gefunden als mit der Ziehl'schen Färbung. Im Vergleich zur Ziehl'schen Methode war von großem Nachteil, daß die Färbung längere Zeit beansprucht und daß die Ammoniumkarbonat-Kristallviolettlösung frisch bereitet werden muß. Die Herman'sche Methode ist zwar zu den besten Methoden zu rechnen, ihrem Wert nach steht sie hinter der Ziehlfärbung.

III. Färbemethode nach Jötten-Haarmann.

1. Vorfärben mit Karbolfuchsin wie bei Ziehl-Neelsen.
2. Entfärben in 15 %iger Salpetersäure etwa 20 Sekunden.
3. Kurze Wasserspülung, nochmals Behandeln mit Salpetersäure 10 Sekunden und folgende Wasserspülung.
4. Spengler's Pikrinsäure-Alkohol 30 Sekunden (gesättigte wässerige Pikrinsäure und absoluter Alkohol zu gleichen Teilen).
5. Wasserspülung.

Ein sehr beachtenswertes Verfahren stellt die Färbemethode von Jötten und Haarmann dar, die eine wesentlich vereinfachte Modifikation der Spengler'schen Pikrinmethode ist. Jötten und Haarmann haben ihr Färbeverfahren an Hand von vergleichenden Untersuchungen geprüft und darauf die oben angegebene vereinfachte Methode empfohlen, die Zeit spart und keine komplizierte Färbungs- und Entfärbungsweise verlangt.

Die Tuberkelbazillen sind leuchtend rot gefärbt und treten auf dem gelben Grunde des Präparates gut hervor. Neben gut erhaltenen Stäbchenformen oder granulierten Formen finden sich auch zahlreiche Bazillensplitter und Bazillentrümmer. Die Zellkerne sind dunkelgelb, das Zellprotoplasma und die Schleimmassen hellgelb gefärbt.

Die nach Jötten-Haarmann gefärbten Präparate geben einen guten Überblick und lassen vor allem die morphologischen Verhältnisse der Tuberkelbazillen mit größter Deutlichkeit erkennen. Splitter und Trümmer von Bazillen, die bei den anderen Färbeverfahren vielfach überfärbt werden, entziehen sich bei diesem Verfahren nicht der Beobachtung. Ein Überfärben der Bazillen ist ziemlich ausgeschlossen. Ein Nachteil der Methode ist, daß durch die Helligkeit des Gesichtsfeldes bei längerem Untersuchen, in besonderem Maße bei künstlicher Beleuchtung, das Auge stark ermüdet wird.

Die Vorzüge der Färbung Jötten liegen einmal darin, daß der Farbkontrast stärker ist, andererseits, daß durch die Behandlung mit Pikrinsäure-Alkohol das Gewebe aufgehellt und durchsichtiger wird, so daß auch die unter Gewebs- und Zellbestandteilen liegenden Tuberkelbazillen leichter zu Gesicht kommen als bei Ziehl-Neelsen. Die positiven Ergebnisse waren bei der Jötten-Haarmann'schen Methode im Vergleich zu den anderen geprüften Färbeverfahren am größten, sprechen also auch für eine Unterlegenheit der Ziehl-Neelsen'schen Methode. Der hohe Wert der Pikrinsäurefärbung erscheint durch die vorliegenden Versuche bewiesen. Die färbetechnischen Gründe sind hauptsächlich in der Vermeidung der verdeckenden Nachfärbung (Methylenblau, Malachitgrün usw.) und in der Aufhellung des Gewebes zu suchen. Es besteht daher die Möglichkeit, die Ausstriche etwas dicker als üblich anzufertigen, jedenfalls aber nur so dick, daß eine gute Differenzierung mühelos gelingt. Eine zu starke Differenzierung hat keine Nachteile, da bei stark entfärbten Präparaten der Kontrast zwischen Bazillen und übrigem Präparat deutlich erhalten bleibt. Die Ergebnisse der geprüften Färbemethoden sind in Tabelle I zusammengestellt, indem zur Vereinfachung der Tabelle von 100 angefertigten Präparaten eine Auswahl von 20 getroffen wurde.

Tabelle 1.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	Gesamtzahl
I. Ziehl-Neelsen																					
A. Originalmethode	2,0	1,2	4,5	6,0	3,3	1,8	1,6	3,0	3,0	2,5	2,2	0,8	3,5	3,5	4,8	4,9	6,0	4,1	0,4	0,6	59,7
B. 1. Schwefelsäure 10%	2,3	1,4	3,8	5,9	2,8	1,8	1,7	3,1	2,2	6,0	4,5	0	4,4	5,1	8,7	5,1	8,2	6,1	1,6	0,7	75,4
Schwefelsäure 5%	1,3	0	6,9	10,7	4,7	0	0	10,0	2,3	0	3,1	0,8	2,0	1,3	2,9	5,8	12,3	3,9	0	0,3	68,3
Salpetersäure 10%	0,6	0	6,5	2,3	2,3	4,5	0	2,3	1,0	2,5	1,8	0	1,9	6,9	2,2	13,3	1,5	1,5	0	1,2	47,8
Salpetersäure 5%	0,9	0,6	9,8	8,0	0	0	0	4,6	1,2	4,0	2,7	0,9	2,8	3,2	3,5	1,3	3,1	3,8	0,4	0,3	51,1
2 Salzsäure-alkohol 3%	0,3	0,2	5,7	2,3	1,9	0	0	0,7	2,8	0	2,2	8,3	1,0	4,6	3,2	4,0	0	0,6	0,2	0	38,0
3. Konrich	1,5	0	5,9	4,0	4,7	1,7	0	13,5	2,5	0	1,3	2,5	2,2	3,6	4,8	7,5	10,4	4,2	0	1,5	71,3
C. Malachitgrün	2,7	1,8	13,0	7,3	3,3	0	0	6,2	3,6	4,0	0	10,0	1,2	5,7	11,6	12,4	7,5	6,3	1,1	0	97,7
II. Herman	2,4	1,6	6,2	9,5	7,1	0	2,5	10,7	2,9	2,5	5,4	0	2,5	4,0	9,0	7,1	9,9	4,9	1,0	1,8	91,9
III. Jötten-Haarmann	3,0	2,0	15,4	9,2	4,2	0,9	15,8	6,9	3,0	6,5	4,0	29,1	1,8	6,3	11,9	27,3	14,8	5,8	0,7	2,1	170,7

Einengungsverfahren.

Beim Vorhandensein nur weniger Tuberkelbazillen im Auswurf führt der einfache Sputumausstrich häufig nicht zum Ziel. Es ist klar, daß das Auffinden mehr oder weniger vom Zufall abhängt, zumal die Tuberkelbazillen erfahrungsgemäß in mehr oder weniger größeren Schleimklümpchen eingehüllt, in Nestern und nicht in gleichmäßiger Verteilung im Sputum zerstreut sind.

Während das gewöhnliche Ausstrichpräparat die am meisten verbreitete Methode ist, werden die Anreicherungsverfahren weniger angewandt. In diesem Fall wird das möglichst frische Untersuchungsmaterial auf Nährböden verbracht, um auf diese Weise eine Vermehrung der Tuberkelbazillen zu erzielen.

Von größerer praktischer Bedeutung sind dagegen die Einengungsverfahren. Es kommt hierbei darauf an, die Tuberkelbazillen von den sie umhüllenden Massen (Schleim, andere Bakterien usw.) zu befreien. Dieses wird bewirkt durch das wohl am häufigsten angewandte, von Uhlenhuth eingeführte Antiformin.

Das Antiformin ist eine Natriumhydrat enthaltende Natriumhypochloritlösung, die ihre auflösende Eigenschaft der Kombinationswirkung von Chlor und Alkali verdankt. Seine Bedeutung für die Sputumuntersuchung beruht auf der Tatsache, daß die mit einer Wachshülle versehenen, säurefesten Bazillen dem Antiformin gegenüber widerstandsfähig sind, während alle anderen Bakterien aufgelöst und ihre Gifte unwirksam gemacht werden. Ferner löst das Antiformin Schleim, Eiter, Stuhl, Kreatin usw. nach kurzer Zeit mehr oder weniger restlos auf.

In neuerer Zeit sind öfters Zweifel geäußert worden, ob die fast allgemein angenommene Überlegenheit der Einengungsverfahren, insbesondere mit Antiformin, beim Tuberkelbazillennachweis im gewöhnlichen Ausstrichpräparat zu Recht besteht. Demgegenüber haben sich für das Einengungsverfahren ausgesprochen Schmitz-Brauer, Fourest, Hundeshagen, Pröschold, Machens, Voigt, Vogelbach u. a., die sowohl mit dem Antiforminverfahren nach Uhlenhuth-Xylander, als auch mit Fällungsmethoden gearbeitet haben.

Bei den folgenden Sputumuntersuchungen wurden zwei Einengungsverfahren, die Uhlenhut'sche Antiforminmethode in der

von Hundeshagen angegebenen Form und die in neuester Zeit von E. Schmidt vorgeschlagene Modifikation, angewandt und mit dem gewöhnlichen Ausstrichpräparat verglichen. Der Wert jeder Methode wurde so ermittelt, daß 100 Sputen untersucht und die Ergebnisse ausgezählt wurden, um einen möglichst objektiven Maßstab für den Wert der einzelnen Verfahren zu erhalten. Die Ergebnisse von 20 Sputumuntersuchungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Gefärbt wurden die Präparate nach zwei Färbeverfahren, die bei den Untersuchungen des gewöhnlichen Ausstrichpräparates die besten Resultate ergeben hatten: nach Jötten-Haarmann und nach Ziehl-Neelsen mit Entfärbung in 10 %iger Schwefelsäure und Nachfärbung mit Malachitgrün.

I. Einengungsverfahren nach Hundeshagen.

Zunächst werden von dem Sputum, falls es sich in einen wässerigen und einen eitrig-schleimigen Teil scheidet, die wässerigen Bestandteile soweit als möglich beseitigt, so daß nur der eitrige oder schleimige Rest zur Verarbeitung kommt. Von diesem werden angefertigt:

1. Ein Ausstrichpräparat: ein eitriges Teilchen wird auf dem einen Ende des Objektträgers auf kleinem Raume in nicht allzu dünner Schicht auf einer Fläche von etwa 2 Quadratzentimetern ausgestrichen.
2. Zwecks Homogenisierung wird 1 Teil Sputum mit 2 Teilen 50 %igem Antiformin versetzt (bei dünnwässerigen Sputen genügt 1 Teil Antiformin auf 1 Teil Sputum).
3. Das Gemisch wird während 10—30 Minuten wiederholt umgeschüttelt, wonach rasche Lösung eintritt.
4. Die Auflösung wird mit der gleichen bis doppelten Menge destillierten Wassers verdünnt und nach gleichmäßiger Mischung in ein durch trockene Hitze sterilisiertes Zentrifugenglas gefüllt.
5. Zentrifugieren ½—1 Stunde lang (bei etwa 2000 Umdrehungen).
6. Restloses Abgießen der überstehenden Flüssigkeit, wobei das Gläschen zunächst nicht aufgerichtet werden darf, vielmehr mit der Öffnung nach unten auf eine aufsaugende Unterlage

(z. B. Zellstoff oder Watte) senkrecht oder nahezu senkrecht für 5—10 Minuten aufgestellt wird.

7. Sorgfältiges Aufnehmen des Bodensatzes mit der Platinöse und Übertragen auf den bereits zu Anfang mit dem Ausstrichpräparat versehenen Objektträger in folgender Weise: Auf 2—4 kleine, nebeneinanderliegende Stellen der Objektträgermitte wird von dem Sediment je eine kleine Öse aufgetragen und in nicht zu dünner Schicht auf einen Raum von nur wenigen Millimetern Durchmesser verteilt, wobei es sich empfiehlt, die kleinen Ausstriche in verschiedener Dichte herzustellen. Neben diesen außerhalb des Ausstrichpräparates gelegenen Stellen werden noch innerhalb des Ausstriches, der inzwischen eingetrocknet ist, etwa 2 Ösen in der gleichen Weise auf ganz kleinem Raum verteilt, am besten an bestimmten Stellen, z. B. an den 2 Endpolen des Ausstrichpräparates.
8. Trocknen hoch über der Flamme, Fixieren und Färben, vorsichtig spülen.
9. Nach Abspülen wird die Präparatseite nicht mit Fließpapier abgetrocknet, sondern durch warme Luft getrocknet.

II. Einengungsverfahren nach E. Schmidt.

1. Zwecks Homogenisierung wird das Zentrifugen-Spitzgläschen bis etwa zur Hälfte mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt und erhält dann je nach dem Schleimgehalt einen Zusatz von 5 %iger Antiforminlösung, als Höchstmenge die gleiche Menge wie im Zentrifugengläschen, bei weniger schleimhaltigen Aufschwemmungen entsprechend geringere Mengen.
2. Die mit Antiformin versetzten Röhrchen werden für die Dauer von 15 Minuten in ein Wasserbad von 40° verbracht und dann zentrifugiert (20 Minuten).
3. Zweckmäßigerweise wird das Zentrifugat einmal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen.
4. Das Zentrifugat wird von der überstehenden Flüssigkeit befreit und mittels eines sterilen Glasstabes mit abgerundetem Ende im Zentrifugengläschen verrieben.
5. Der Bodensatz wird mit einer sterilen Glaskapillare aufgesogen und in Tropfenform auf den Objektträger gebracht.

6. Trocknenlassen der Präparate bei Zimmertemperatur an einem ruhigen erschütterungsfreien Ort (2—3 Stunden).
7. Fixieren und Färben.
8. Aufsuchen der Bazillen entlang der Randzone des Tropfens.

Voraussetzung für eine möglichst vollständige Einengung der Tuberkelbazillen im Zentrifugat ist eine dünnflüssige Beschaffenheit der Sputumauflösung und eine gute Zentrifuge von etwa 2000 Umdrehungen. Bemerkenswert ist, daß der Prozentsatz der ausschließlich nach Einengung positiven Befunde sehr verschieden sein kann und abhängig war von der Herkunft des untersuchten Materials.

Die Prüfung der Einengungsverfahren hatte das Ergebnis, daß sowohl nach dem Verfahren von Hundeshagen als auch von E. Schmidt in 9 Proz. der Fälle noch positive Ergebnisse erzielt werden konnten, bei denen der Bazillennachweis im gewöhnlichen Ausstrichpräparat nicht gelungen war. Im allgemeinen war auch die Zahl der Bazillen im gewöhnlichen Ausstrichpräparat geringer.

Besonderer Wert wurde bei dem Hundeshagen'schen Verfahren auf das Austrocknen des Sediments gelegt. Der damit beabsichtigte Zweck ließ sich meist erreichen, denn nur in ganz seltenen Ausnahmefällen haftete der Sedimentausstrich nicht gut. Aus den Versuchen ging eindeutig vervor, daß in der Mehrzahl der Präparate bei diesem Sedimentierverfahren von einer wirklichen Einengung der Bazillen gesprochen werden konnte. Es genügte oft ein Blick auf eine Stelle des eingeengten Präparates, um sagen zu können, ob das betreffende Sputum positiv war, während bei dem gewöhnlichen Ausstrichpräparat oft minuten-, ja viertelstundenlang gesucht werden mußte.

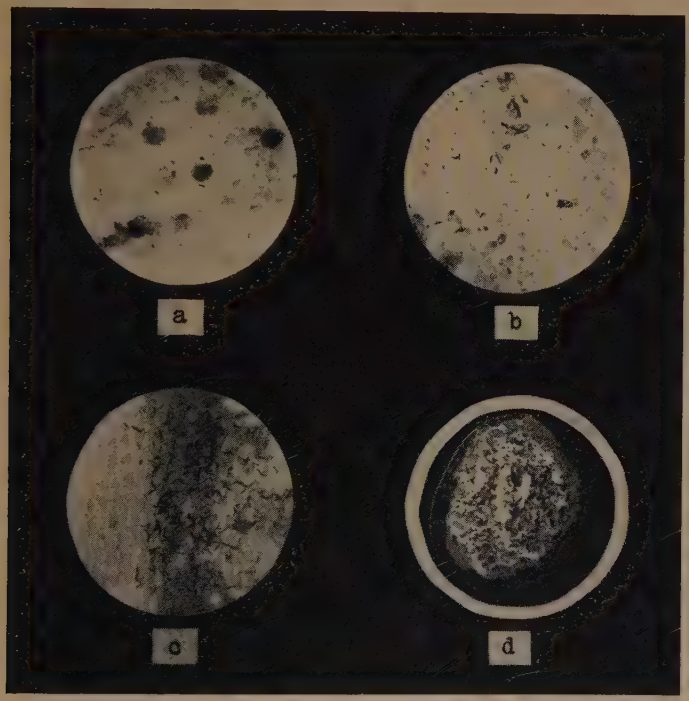
Beim Vergleich der beiden Einengungsverfahren untereinander ergab sich, daß das von E. Schmidt angegebene Tropfenverfahren gegenüber dem Hundeshagen'schen Verfahren nicht nur die gleiche Prozentzahl positiver Ergebnisse zeigte, sondern daß die Zahl der gefundenen Bazillen sogar durchschnittlich um 30 Proz. höher lag. Ein weiterer großer Vorteil der Tropfenmethode war, daß die Anforderungen, die an den Untersucher gestellt werden,

wesentlich verringert werden, da dieses Verfahren die Übersichtlichkeit der mikroskopischen Präparate erleichtert und damit die Schwierigkeiten bei der Durchsicht verringert. Schon bei der makroskopischen Betrachtung des Tropfenpräparates ist zu erkennen, daß die groben Beimengungen sich im Zentrum des Tropfens abgesetzt haben, während die Randzone dünn und durchsichtg erscheint. Die große Erleichterung der Durchsicht der Präparate besteht also darin, daß nach Färbung in der Randzone eine Fläche ohne irgendwelche Verunreinigungen und Beimengungen zur mikroskopischen Untersuchung zur Verfügung steht. Ein weiterer Vorteil ergibt sich daraus, daß an der Peripherie des Tropfens eine Anssammlung der Tuberkelbazillen stattgefunden hat. Diese Erscheinung ist dadurch zu erklären, daß der Tropfen den oberen Abschnitt einer Kugel darstellt, mithin zum Rande hin dünner wird und durch die schnellere Verdunstung der dünnen Randzone eine Strömung nach der Peripherie einsetzt, die die leichteren Bestandteile des Tropfens, also auch die Tuberkelbazillen, zum Rande hinbewegt, während die schwereren Beimengungen sich im Zentrum absetzen.

Die Tropfenmethode ist sehr hoch zu bewerten. Mit dieser Methode waren gegenüber dem gewöhnlichen Ausstrichpräparat mit negativem Ergebnis noch Tuberkelbazillen nachzuweisen, auch im Vergleich zum Hundeshagen'schen Verfahren, da bei der mikroskopischen Untersuchung des Präparates nur die schmale Randzone des Tropfens durchgemustert zu werden braucht. Bei einigermaßen zahlreich vorhandenen Tuberkelbazillen ist der kreisförmige Untersuchungsgang in kurzer Zeit beendet, da nach dem Einstellen der Randzone die Diagnose in kürzester Zeit möglich ist. Die Durchsicht der Randzone der Tropfenpräparate erfordet keine besondere Aufmerksamkeit des Untersuchers, die bei Untersuchung der auf übliche Weise hergestellten Ausstrichpräparate sonst notwendig ist. Die E. Schmidt'sche Tropfenmethode verdient daher, als Fortschritt auf dem Gebiete des Tuberkelbazillennachweises angesehen zu werden.

Bei unsachgemäßer Anfertigung der Präparate können schollige Gebilde einen Teil des Randes oder den ganzen Rand bedecken und diesen daher für die mikroskopische Untersuchung ungeeignet machen. Diese Erscheinung tritt dann auf, wenn der Schleim

durch das Antiformin nur ungenügend zur Lösung gebracht wird. Da diese Gebilde bei der Färbung den Farbstoff intensiv aufnehmen und bei der Entfärbung schwer abgeben, wirken sie sehr störend. Daher wurde bei den Untersuchungen an Stelle des von E. Schmidt für Lungenschleimproben von Rindern vorgeschlagenen 5 %igen Antiformins eine Konzentration von 50 % angewandt, da der Schleim vom Menschen im allgemeinen eine viel zähere Konsistenz besitzt und bei Tuberkulösen oft gröbere Eiterpartikelchen enthält. Außerdem wird dadurch das Einbringen



a) Mikroskopisches Gesichtsfeld eines gewöhnlichen Ausstrichpräparates.—
b) Dasselbe Sputum nach dem Hundeshagen'schen Sedimentierverfahren.—
c) Dasselbe Sputum nach der Schmidt'schen Tropfenmethode (Randzone).—
d) Der Schmidt'sche Tropfen mit der durchsichtigen Randzone im makroskopischen Bild.

der Sputum-Antiforminaufschwemmung in ein Wasserbad von 40° überflüssig, weil die vollständige Homogenisierung bereits nach 5, spätestens nach 10 Minuten unter wiederholtem Umschütteln erreicht ist. Daß eine Schädigung des Tuberkelbazillus durch die hohe Antiforminkonzentration von 50 % eingetreten wäre, konnte nicht beobachtet werden und ist auch wohl kaum anzunehmen, da das Antiformin nur kurze Zeit zur Einwirkung kam.

Hinsichtlich der Färbung der Präparate zeigt Tabelle 2, daß auch bei beiden angewandten Einengungsverfahren die Jötten-Haarmann'sche Färbung mehr Bazillen zur Darstellung brachte als das Ziehl-Neelsen'sche Verfahren. Die vorhandenen Tuberkelbazillen heben sich bei dem Verfahren von Hundeshagen und in der gleichmäßig durchsichtigen, schmalen Randzone des Tropfenpräparates von E. Schmidt scharf und deutlich ab, so daß ihre Erkennung ohne besondere Schwierigkeit möglich ist.

Die vergleichende Prüfung von verschiedenen Färbemethoden und von besonderen Einengungsverfahren zum Nachweis der Tuberkelbazillen hat folgendes Ergebnis:

1. Die geprüften Färbeverfahren (Ziehl-Neelsen, Konrich, Herman und Jötten-Haarmann) zeigten die Überlegenheit des Jötten-Haarmann'schen Verfahrens.

2. Die Ziehl-Neelsen'sche Methode erfährt durch Abänderung der Entfärbung mit 10 %iger Schwefelsäure und Nachfärbung mit Malachitgrün eine Steigerung der Leistungsfähigkeit.

3. Die Einengungsverfahren, die von erheblichem Wert sind, sollten bei jedem negativen Sputumpräparat angewandt werden.

4. Das Sedimentierverfahren nach Hundeshagen bewirkt eine Konzentration der Bazillen und bietet daher Vorteile beim Nachweis spärlicher Tuberkelbazillen.

5. Die von E. Schmidt angegebene Tropfenmethode zur Untersuchung von Lungenschleimproben von Rindern ist auch für Sputumproben vom Menschen unter Verwendung von 50 %igem Antiformin geeignet. Dieses Verfahren ist als Fortschritt für die mikroskopische Feststellung von Tuberkelbazillen anzusehen.

Tabelle 2.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	Gesamtzahl
I. Einfacher Ausstrich:																					
1. Färbung nach Ziehl-Neelsen	1,5	5,9	0	2,3	0	0,8	0,4	6,5	1,2	0,1	0,6	1,2	0	1,8	4,8	7,5	10,5	2,1	0	1,5	48,7
2. Färbung nach Jötten-Haarmann	2,7	13,0	0,5	1,6	0	0,4	0,3	3,1	1,8	2,0	0,2	1,5	0	2,3	11,6	12,6	7,6	3,3	2,1	0	66,6
II. Hundeshagen:																					
1. Färbung nach Ziehl-Neelsen	3,1	11,3	2,3	0,8	3,6	2,2	1,8	18,4	1,6	0,9	0,5	3,9	1,8	3,9	17,6	13,7	15,8	6,6	1,9	6,2	117,9
2. Färbung nach Jötten-Haarmann	5,6	20,8	2,2	0,5	5,7	4,3	2,1	20,2	5,7	3,2	0,1	11,6	2,1	5,4	21,1	25,6	16,7	7,9	3,1	7,3	171,2
III. E. Schmidt:																					
1. Färbung nach Ziehl-Neelsen	4,3	33,2	1,8	4,6	6,2	0,3	4,2	7,6	8,2	3,3	3,1	8,4	1,7	6,6	45,5	12,6	33,9	7,3	3,0	7,4	203,1
2. Färbung nach Jötten-Haarmann	5,2	41,3	2,6	5,3	6,4	0,1	4,9	5,7	9,4	2,8	4,2	10,5	2,5	8,2	49,4	18,3	45,7	6,2	3,7	11,7	244,1

Schrifttum.

1. Adam: Inaug.-Diss. Leipzig 1910.
2. Bender, W.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 86, S. 461.
3. v. Bergen: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 88, S. 600.
4. Berka, F.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 51, S. 456.
5. Bernblum, W.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 87, S. 23.
6. Betegh, V. L.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 49, S. 461.
7. Drs. : Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd.. 47, S. 654.
8. Drs. : Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 52, S. 550.
9. Biedert: Berl. klin. Wchschr. 1886, S. 713 u. 742.
10. Boit, E.: Beitr. Klin. Tbk. Bd. 36, S. 227.
11. Böhm, J.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 62, S. 497.
12. Bornand: Inaug.-Diss. Lausanne 1909.
13. Brauer, K.: Dtsch. med. Wschr. 1918, S. 266.
14. Brieger, L.: Berl. klin. Wschr. 1900, S. 272.
15. Caan, A.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 49, S. 637.
16. Czaplewski: Z. Tbk. Bd. 1, S. 387.
17. Ditthorn, F. u. Schultz, W.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 79, S. 166.
18. Dordt, K.: Inaug.-Diss. Tübingen 1919.
19. Ehrlich, P.: Dtsch. med. Wschr. 1882, S. 269.
20. Engelsmann, R.: Dtsch. med. Wschr. 1918 I, S. 11.
21. Fourest: C. r. Soc. Biol. 1923, 88, p. 516; Ref. Zbl. Bakter. Abt. I. Ref. Bd. 76, S. 401.
22. Frei: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 61, S. 411.
23. Gaté, Papacostas u. Lacoste: C. r. Soc. Biol. 1921, 84, p. 405; Ref. Zbl. Bakter. Abt. I. Ref. Bd. 72, S. 544.

24. Hetzel, E.: Arch. Tierheilk. Bd. 47, S. 109.
25. Hobbel, H. K.: Nederl. Tijdschr. Geneesk. 1910, S. 1746.
26. Hundeshagen, K.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 82, S. 14.
27. Hüne: Hyg. Rdsch. 1908, S. 18.
28. Drs.: Dtsch. med. Wschr. 1909 II, S. 76.
29. Ingwersen, Fr.: Zbl. inn. Med. 1918, S. 193.
30. Isobalinski-Gitowitsch: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 94, S. 22.
31. Jötten, K. W. u. Haarmann, P.: Münch. med. Wschr. 1920, S. 692.
32. Kayser: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 55, S. 91.
33. Kongsted, E.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 84, S. 513.
34. Konrich: Dtsch. med. Wschr. 1920, S. 741.
35. Drs.: Dtsch. med. Wschr. 1923, S. 852.
36. Kronberger, H.: Dtsch. med. Wschr. 1907, S. 272.
37. Drs.: Beitr. Klin. Tbk. Bd. 16, S. 157.
38. Krumwiede u. Blackburn: Collect. stud. fr. the Res. Labor. Departm. of Health, City of New Jork. Vol. 6, 1911, p. 135; Ref. Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 35, S. 530.
39. Lagrèze: Dtsch. med. Wschr. 1910 I. S. 76.
40. Lange u. Nitsche: Dtsch. med. Wschr. 1909 I, S. 435.
41. Laubenheim: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 91, S. 78.
42. Leichtweiß, Fr.: Z. Tbk. Bd. 25, S. 108.
43. Machens: Dtsch. tierärztl. Wschr. 1923, S. 15; Ref. Zbl. Bakter. Abt. I. Ref. Bd. 76, S. 401.
44. Marx, E.: Münch. med. Wschr. 1919, S. 410.
45. Meyer, K.: Tuberkulosis Bd. 8, S. 71.
46. Much, H.: Beitr. Klin. Tbk. Bd. 8, S. 85.
47. Drs.: Berl. klin. Wschr. 1908 I, S. 691.
48. Mühlhäuser, H.: Dtsch. med. Wschr. 1891, S. 82.
49. Muttray: Z. Bahnärzte 1910, S. 71 u. 86.
50. Naegeli, Akerblom u. Vernier: Ther. Mh. 1909, S. 212.
51. Nagel, V.: Dtsch. med. Wschr. 1923 II, S. 1441.

52. Orth, J.: Berl. klin. Wschr. 1883, S. 421.
53. Polugorodnik: Beitr. Klin. Tbk. Bd. 18, S. 169.
54. Porges: Berl. klin. Wschr. 1900, S. 957.
55. Pröschold: Dtsch. tierärztl. Wschr. 1923, S. 312; Ref. Zbl. Bakter. Abt. I. Ref. Bd. 76, S. 429.
56. Reicher, K.: Med. Klin. 1910 I, S. 826.
57. Rindfleisch: Dtsch. med. Wschr. 1883, S. 16.
58. Roepke, O.: Dtsch. med. Wschr. 1911 II, S. 1882 u. 1937.
59. Sachs-Mücke: Münch. med. Wschr. 1906 II, S. 1660.
60. Drs. : Dtsch. med. Wschr. 1910 I, S. 320.
61. Schaedel: Münch. med. Wschr. 1920, S. 693.
62. v. Scheven, E.: Dtsch. med. Wschr. 1909 II, S. 1617.
63. Schmidt E.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 1935, S. 225.
64. Schmitz, K. E. F. u. Brauer, K.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 81, S. 359.
65. Schulte: Med. Klin. 1910 I, S. 172.
66. Schulte-Tigges: Dtsch. med. Wschr. 1920 II, S. 1225.
67. Sorgo: Münch. med. Wschr. 1906 I, S. 34.
68. Spengler, C.: Dtsch. med. Wschr. 1907, S. 337.
69. Spreitzer: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 86, S. 458.
70. Thilenius: Berl. klin. Wschr. 1909, S. 1169.
71. Uhlenhuth, P.: Med. Klin. 1909 II, S. 1296.
72. Drs. : Zbl. Bakter. Abt. I. Ref. Bd. 42, S. 62.
73. Drs. : Med. Klin. 1909, Nr. 13.
74. Drs. : Z. exper. Path. u. Ther. Bd. 6, S. 759.
75. Ulrichs, B.: Dtsch. med. Wschr. 1919, S. 648.
76. Vogelbach, R.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 83, S. 9.
77. Voigt, G.: Zbl. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 85, S. 121.
78. Weiß, M.: Z. Tbk. Bd. 30, S. 330.
79. Wolff: Mschr. Geburtsh. u. Gynäkol., zit. n. Handbuch f. patholog. Mikroorganismen, 1. Aufl., S. 91.
80. Zimmermann: Dtsch. med. Wschr. 1924, S. 14.

Lebenslauf.

Ich, Werner Bangel, geb. am 11. Juli 1910 zu Altenhagen bei Bielefeld, Sohn des Lehrers Karl Bangel, evang.-luth. Bekenntnisses, besuchte zunächst die Volksschule in Altenhagen und darauf das Gymnasium in Bielefeld, wo ich am 28. Februar 1929 die Reifeprüfung bestand. Mein ärztliches Studium begann S.-S. 1929 in Göttingen. Ich studierte dort vier Semester und setzte dann mein Studium im S.-S. 1931 in Rostock fort. Hier bestand ich am 24. Okt. 1931 die ärztliche Vorprüfung. W.-S. 1931/32 studierte ich in Göttingen, S.-S. 1932 in Frankfurt a. M. und vom W.-S. 1932/33 ab bis S.-S. 1934 wieder in Rostock, wo ich am 15. Dez. 1934 mein ärztliches Staatsexamen bestand. Im Anschluß hieran trat ich im Januar 1935 meine innehabende Medizinalpraktikantenstelle in der Medizinischen Universitätsklinik Rostock an.

Zum Schlusse komme ich der angenehmen Pflicht nach, Herrn Prof. Dr. Dr. Poppe für die Zuweisung der Arbeit sowie für die Anleitung bei den Untersuchungen meinen aufrichtigen Dank auszusprechen. Herrn Oberassistent Dr. E. Schmidt danke ich für die mir bei der Ausführung der Arbeit gegebenen Ratschläge und Hinweise.